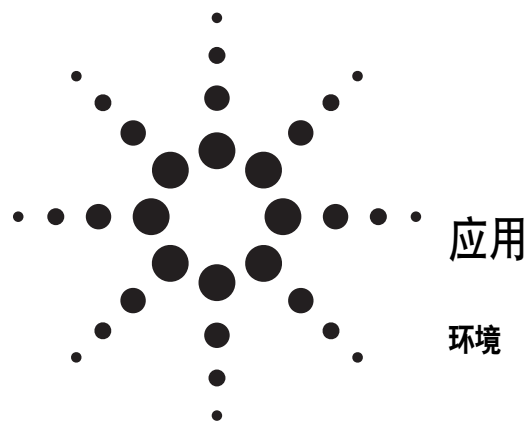


一种用于灭鼠剂分析的 LC/MS 新方法



作者

Friedrich Mandel and Juergen Wendt
Agilent Technologies
Waldbronn, Germany

Raffaele Vistocco and Christian Bachmann
Chromatography Department, A.P.P.A.
Bolzano, Italy

摘要

本文介绍了一种用于监测复杂样品中数种香豆素类灭鼠剂的 LC/MS 方法。无论是克灭鼠还是杀鼠迷,在正离子模式 ESI 下的响应均比负离子模式 ESI 弱。这些化合物在 APCI 正离子模式下的响应比 ESI 强,但是在负离子模式下,杀鼠迷的 APCI 响应比 ESI 弱。基于这些结果,本优化方法采用了 ESI 负离子模式进行分析。

引言

啮齿类动物如大鼠和小鼠必须得到控制,因为它们会破坏粮食,并且可作为宿主携带人类致病病毒,如汉坦病毒等。尽管单个动物或小的族群能够通过诱捕消灭,但对于较大的族群,使用灭鼠剂仍然是最行之有效的控制啮齿类动物的方法。大多数的灭鼠剂对人类和家畜(如狗等)有毒。

抗凝类毒物通过干扰凝血机制起作用。通过反复摄入相对小的剂量,累积达到致死剂量,并由于内出血而导致死亡。抗凝类毒物也可能导致鼻腔、牙龈、胃肠道和尿道的自发出血。

本文中,开发了一种用于监测复杂样品中数种香豆素类灭鼠剂的 LC/MS 方法。



Agilent Technologies

实验部分

所有的实验都在 Agilent 1100 系列 LC/MSD 系统上进行, 该系统包括双泵、真空脱气机、自动进样器、带有柱切换阀的柱温箱、二极管阵列检测器和 LC/MSD。同时使用了电喷雾电离 (ESI) 和大气压化学电离 (APCI) 两种离子源。通过 Agilent ChemStation 对 LC/MS 进行全面的系统控制和数据分析。

试剂级的化学物质和 HPLC 级溶剂被用于流动相和标准品的制备。

本次研究中所用的化合物根据其结构中共有的香豆素部分, 均被归为香豆素类灭鼠剂 (图1)。方法开发包括了对离子化技术 (ESI 和 APCI)、离子极性和碰撞诱导解离电压的评估, 以寻找测定三种被分析物的最佳条件。

为了测试这种方法的性能, 分析了加标的香肠提取物和狗胃提取物。在样品中加入 0.5 或 5 ppm 的标准品, 然后进行常规的提取和样品净化 [1]。将该加标样品置于丙酮中 4 小时进行提取。然后将丙酮溶液蒸发至约 50 mL, 再以二氯甲烷 100 mL 提取。取丙酮层, 用无水硫酸钠干燥, 滤过, 蒸干。提取物重新溶解于 2 mL 丙酮中, 注入填有 15 g 硅胶和 1 g 活性炭的色谱柱, 用二氯甲烷/苯/丙酮 (10/2/2 v/v) 洗脱, 洗脱液蒸干后, 溶解于 5 mL 甲醇中。所得样品提取物随后用 ESI-LC/MS 分析。

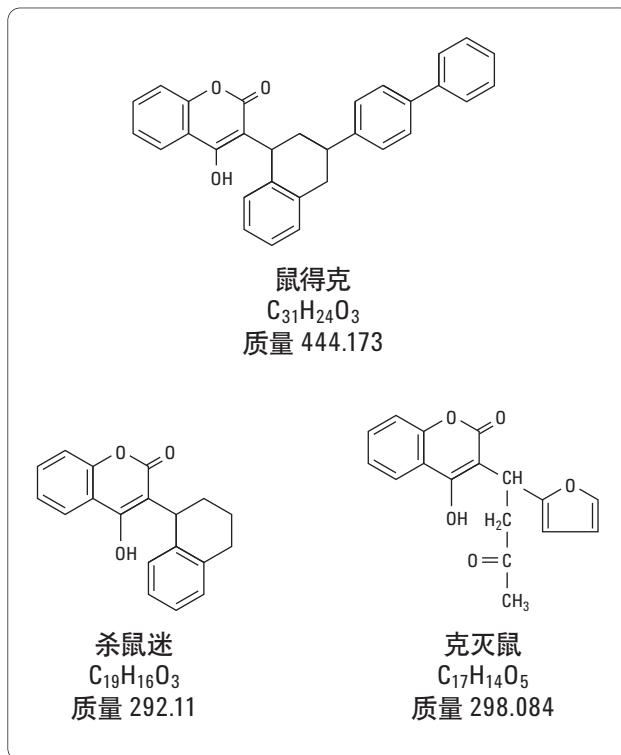


图1. 香豆素类灭鼠剂

结果与讨论

克灭鼠和杀鼠迷在正离子模式 ESI 下的响应均比负离子模式 ESI 弱 (图2)。这些化合物在 APCI 正离子模式下的响应比 ESI 强, 但是杀鼠迷在 APCI 负离子模式下的响应比 ESI 弱。基于这些结果, 选择 ESI 负离子模式进行优化方法分析。

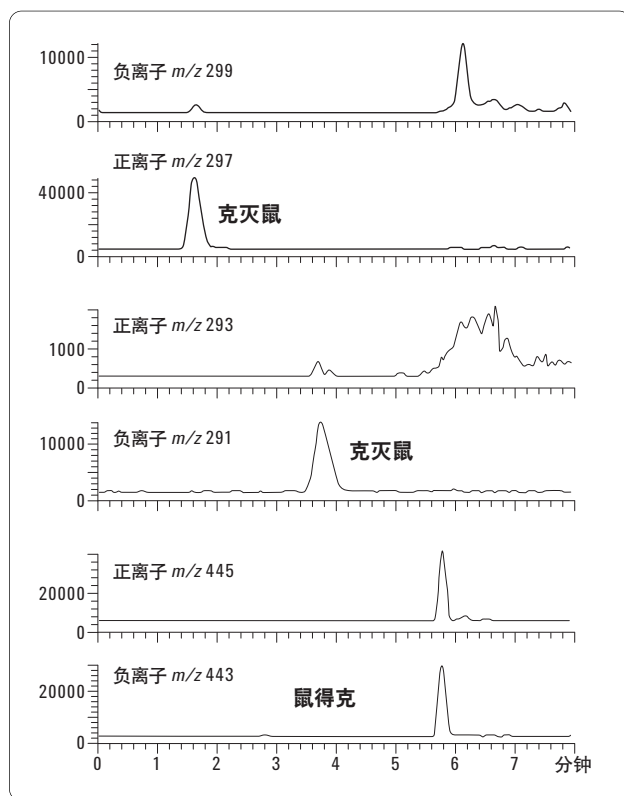


图2. 电喷雾 LC/MS 的正离子和负离子模式比较

一般情况下，正离子比负离子更容易解离，因此对两种模式的碰撞诱导解离电压分别进行优化。例如，鼠得克在正离子模式下，在 160 V 下显示很强的裂解，而在负离子模式下，同样的电压却没有产生裂解。在最终确定的方法中，对各种离子的碰撞诱导解离电压进行了优化。

对于从复杂基质中提取的样品，可以通过监测去质子化分子和 1 m/z 上下的离子来检查共洗脱物。在最终确定的方法中应用了这一策略，对每一种被分析物同时监测一组共三个离子。每种被分析物的三个监测离子按时序编为一个 SIM 离子组，以获得最长的驻留

分析方法

色谱条件

色谱柱：

ZORBAX® XDB-C18,
150 mm × 2.1 mm, 5 μm
(部件号 993700-902)

流动相：

A = 2 mM 乙酸铵水溶液
B = 甲醇

梯度：

起始30% B
2 分钟时50% B
4 分钟时100% B

流速：

0~2 分钟 0.4 mL/min,
然后变为 0.5 mL/min

柱温：

50 °C

进样量：

2 μL

二极管阵列信号：

280, 16 nm ; 参比: 550,
100 nm

ESI-MS 条件

离子源：

ESI

干燥气流速：

10 L/min

雾化器压力：

40 psig

干燥气温度：

350 °C

毛细管电压：

2500 V (正离子和负离子)

步幅：

0.1

峰宽：

0.2 min

时间过滤器：

开

全扫描范围：

m/z 150–500

SIM 离子(负离子： 模式)

296, 297, 298 克灭鼠
290, 291, 292 杀鼠迷
442, 443, 444 鼠得克

碰撞诱导解离电压：

可变的 180 V (50–275)
100 V (280)
120 V (400)

时间，从而保持最高的灵敏度。图 3 显示了加标香肠提取物的分析结果。在此分析中，数据由全扫描方式采集而得，因为克灭鼠和鼠得克均以足够高的浓度存在。加标物在 5 ppm 水平的质谱图质量很好。狗胃提取物的加标浓度较低，仅为 0.5 ppm，因此选择了 SIM 分析方式 (图 4)。只有加入的克灭鼠出现明显信号。

本文证明了抗凝类灭鼠剂能够同时通过正、负离子模式的 APCI 和 ESI 得到检测。对于三种目标化合物，负离子模式 ESI-LC/MS 是最佳选择。这种 LC/MS 方法能够检测复杂样品中的灭鼠剂。

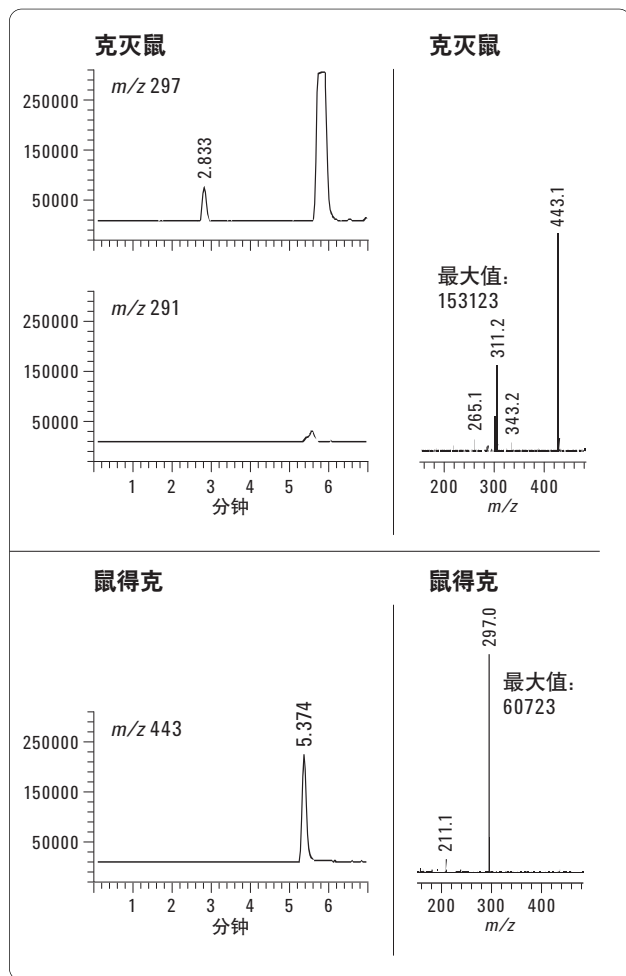


图3 分析加入 5 ppm 克灭鼠和鼠得克的香肠提取物所得的萃取离子色谱图（左）和质谱图（右）。数据是由全扫描方式在负离子模式下采集而得

参考文献

1. V. Faucannet, H. Pouliquen, and L. Pinault, *Journal of Analytical Toxicology*, **27**, 1997.

更多信息

如需了解更多有关产品和服务的信息，请访问我们的网站 www.agilent.com/chem/cn。

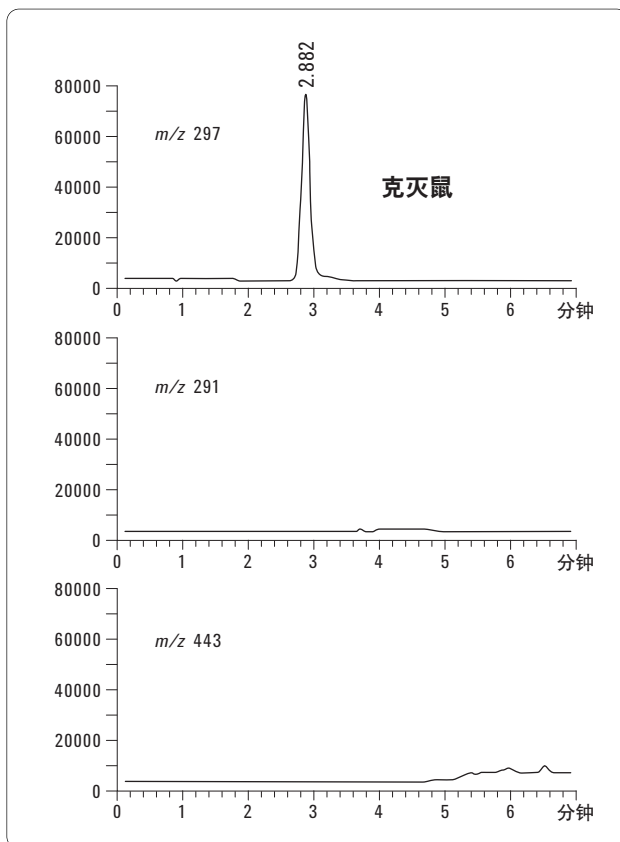


图4 分析加入 0.5 ppm 克灭鼠的狗胃提取物所得的提取离子色谱图。数据是由SIM方式在负离子模式下采集而得

安捷伦对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失不承担任何责任。

本文的内容如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技公司 2008

中国印刷
2008 年 4 月 28 日
5989-8440CHCN



Agilent Technologies